

Mikrobiální ekologie vody

8. Hygienické aspekty



Josef K. Fuksa, VÚV T.G.M., v.v.i. PPFUK Katedra ekologie
josef_fuksa@vuv.cz

© JKF 2008

Nákazy „vodou“:

- Alimentární – voda a potraviny.
- Aerosol.
- Kůží.
- Kožní.
- Ušní apod.
- Přenašeči vázaní na vodní prostředí: Malárie, dengue.

Alimentární nákazy:

boj s normální „mikroflorou“ (16s RNA analýza)

- **Ústní dutina** 700 druhů, vede Streptococcus. Biofilmy!
- **Jícen:** Mucus, 95 druhů, navazuje na ústní společenstvo.
- **Žaludek:** Jediný stálý resident *Helicobacter pylori*. 128 druhů – residentní/spolknutí?
- **Tenké střevo:** Krátká doba zdržení, postupová rychlost zpomaluje! Mukus, počty B rostou z 10^4 na 10^7 /ml, roste i počet druhů a podíl anaerobů.
- **Tlusté střevo:** Postupný gradient - hydrolyza sacharidů > fermentace > fermentace aminokyselin. U slepého střeva 10^8 , na konci 10^{12} B/ml. Fakultativní anaerobové mizí, 800 druhů.

Bakterie:	Nemoc:
Salmonella typhi	břišní tyf
S. paratyphi A	paratyf A
S. schottmuelleri	paratyf B
S. hirschfeldii	paratyf C
S. cholerae-suis	salmonelová septicémie
S. typhimurium	salmonelová gastroenteritis
Shigella dysenterica	bacilární dysentérie
Vibrio cholerae „klasika, El Tor“	Cholera
Leptospira sp.	Weilova žloutenka, blátácká horečka
Mycobacterium sp.	
Legionella	Pneumonie
Klebsiella	
Citrobacter	
Enterobacter	
E. coli hemorgahické atd.	Travellers fever
Yersinia	septicémie, průjmy (u dětí)
pseudotuberculosis, enterocolitica	
Proteus	zaněty moč. ústrojí, dtto popáleniny
Serratia	septicémie močových cest
Campylobacter jejuni, fetus	
Helicobacter pylori	ulcerosis
Enterovirus 72	virová hepatitida A
(poliovirus)	
Giardia, Cryptosporidium, Entamoeba histolytica	

Sem chodily poutě.
Byli předkové odolnější, nebo jen otrlejší?

PAMÁTKA
CHRÁNĚNÁ STAVĚM

užitková voda
kein Trinkwasser
service water
użytkowa woda

Kultura s hygienou a dostatkem vody je základní pokrok 19. století, v Evropě a sev. Americe. Jinde to nefunguje tak pokročile a dobře. Ale i „u nás“ to už naráží na limity zdrojů (množství, kvalita).

Klasické alimentární nákazy 1: Cholera

- **Vibrio cholerae asiatica /Vibrio comma; Vibrio El Tor.**
- Inkubační doba hodiny – 5 dnů. Průjmy, dehydrace, vyplavení Na, K, Cl, atd.
- Člověk – voda – člověk. Potrava (vodní organismy).
- Přežívání a transport na korýšcích.
- Ochrana – pH žaludku.

Klasické alimentární nákazy 2:

Tyfus a spol. (Enterobacteriaceae):

Salmonella typhi, S. paratyphi (B): Tyfus, paratyfy.

- Inkubační doba 7-21 dní. Následné infekce (střevo, žlučové cesty, ledviny) – tyfomy (abscesy). 2-5% bacilonosičů.

S. typhimurium, S. enteritis, S. anatum, S. cholerae suis: Bipatogenní (myš, kachna, prase).

- Gastroenteritidy, následné septikémie.

Další Salmonelly jen přímo s potravou !!!

Klasické alimentární nákazy 3:

Escherichie a další

- **Dyspeptické E. coli** – průjmy kojenců.
- **Hemoragické E. coli** - cestovatelské horečky.
- **Citrobacter freundii** – průjmy.
- **Klebsiella pneumoniae** (primární pneumonie, otitidy), *K. ozaenae* (záněty nosních sliznic).
- **Enterobacter** – různé infekce.
- **Serratia** – infekce močových cest.
- **Proteus** – infekce popálenin apod., průjmy...

Klasické alimentární nákazy 4:

Dyzentérie

Shigella dysenteriae

(*S. flexneri, boudii, sonnei*):

Jen člověk a opice.

Inkubační doba 2-5 dní.

U nás pro zdravé lidi bez problémů, leckde ve světě fatální.

Voda, bacilonosiči.



Alimentární nákazy 5:

- **Campylobacter jejuni** – vytlačuje salmonelózy, i u nás narůstá. Mezihostitel – zvířata!!
- **Campylobacter fetus** – oportunní patogen – imunikompromitované osoby.
- **Helicobacter pylori** – původce vředové choroby (s dalšími faktory). Po 50. roce u nás 50% pozitivních.

Alimentární nákazy – průjmová onemocnění

VYBRANÁ ONEMOCNĚNÍ			
Agens	Prevalence	Potravina	Období
<i>Salmonella</i>	+++	Hovězí, drůbež, vejce, mléčné produkty	léto
<i>S.aureus</i>	+++	Šunka, vejce, saláty, cukroví	léto
<i>C.jejuni</i>	+++	Drůbež, syrové mléko	jaro, léto
<i>C.perfringens</i>	++	Zelenina, ovoce, ryby, med	léto, podzim
<i>Y.enterocolitica</i>	++	Mléko, vepřové	zima
EHEC	++	Hovězí, syrové mléko	léto, podzim
<i>B.cereus</i>	+	Rýže, maso, zelenina	celý rok
<i>Shigella</i>	+ -	Saláty s vejci, zelenina	léto

Respirační nemoci

- **Yersinia enterocolica, pseudotuberculosis** – septikémie a průjmy u dětí, kapénková infekce.
- **Legionella**
- **Mycobacterium**
Mikroflora rozvodů vody: studená/teplá, teče/stojí, nemocnice, sklárny.
Infekce aerosolem – sprchy, aircondition, veřejné budovy.
Termoresistentní, v biofilmu v potrubí.

Leptospirózy

- **Leptospira icterohemorrhagiae:**
Weilova žloutenka: Alimentární, 8-10 dní inkubace.
Hostitel – krysa, potkan.
- **Leptospira gryppotyphosa** aj.:
Blatácká horečka: Infekce kůží (nohy, ruce), 1-2 týdny inkubace.
- Četné leptospirózy u zvířat.

VIBRIO – velmi schopná bakterie

Život v planktonu, vazba na kopepody a sezónní cykly.

Extracelulární enzymy:

- Chitináza – průnik do koryšů.
- Mucináza – průnik gastrointestinálním traktem.
- Quorum sensing – přechod na přisedlou patogenní akci >> cholera.

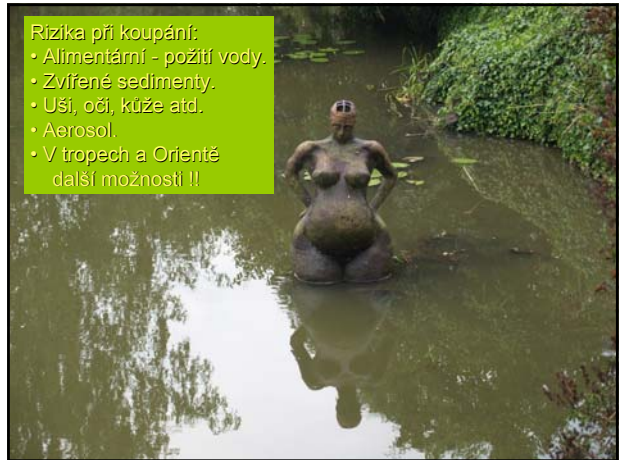
Broad Street water well – Londýn 1854:

První správné (vědecky nepodložené !!) hygienické rozhodnutí – zavřít zdroj.

VIBRIO – velmi schopná bakterie

- *V. parahemolyticus* – gastroenteritidy
- *V. vulnificus* – fatální septikémie (50%) přes poškozenou kůži (stačí trn Tilapie)
- *V. anguillarum* – pstruží a lososí farmy
- *V. tubiashii* – larvy ústřic
- *V. harveyi* – krevety (prawn)
- *V. coralliilyticus* – zooxanthely korálů
- *V. fischeri* – světélkuje (quorum sensing) – v mořských rybách, stanovení toxicity s kulturou VF.
- *V. natriegens* – min 2% NaCl

Rizika při koupání:
• Alimentární - požití vody.
• Zvítěné sedimenty.
• Uši, oči, kůže atd.
• Aerosol.
• V tropech a Orientě další možnosti !!



Patogen vs. Indikátor
jeho přítomnosti/přísunu:

„Patogenů je mnoho, hledíme indikátory.“

- **Indikátor (v „prostředí“):**
 - Úzká ekologická valence – vůči vybranému faktoru.
 - Snadné (bezproblémové) stanovení.
 - Něco indikuje: – co??,
co všechno??, co ne??, kdy??

Indikátor podmínek prostředí:

- **Pro Eukaryota** poměrně prosté – jasné vlastnosti druhů popř. společenstev.
- Třeba „losos v Labi“ – co ale vlastně indikuje? (Zatím se u nás netře, čili indikuje možnost tahu, jakost vody atd.)
- **Pro bakterie** jako typy (i společenstva) těžko použitelné - rychlý růst a transport atd.
(viz fyziologické skupiny).

Indikátor „původu“:

Organismus doprovázející jiné „důležité“ organismy:

- jistota původu - shodný s „důležitým“,
- kauzalita - jistota vazby na výskyt „důležitého“ organismu u zdroje,
- srovnatelnost dalšího osudu - pro transport prostředím, mortalitu, ...
- vyšší abundance a odolnost než „důležitý“.

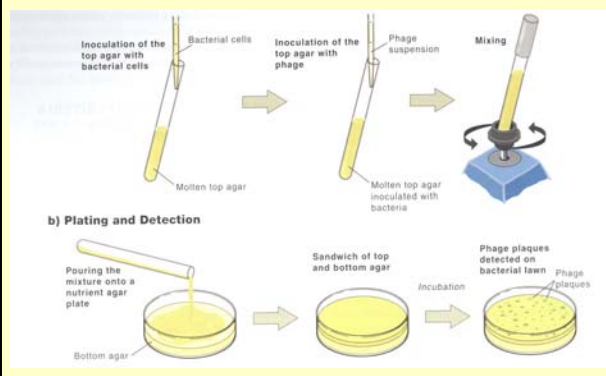
Indikátory přítomnosti patogenních mikrobů ve vodě :

- Koliformní bakterie
- a kolifágy – indikace „virů“
- ČSN 757111 – Pitná voda.
- **ČSN ISO 9308-1, 9308-2.**

Chemicky:

- Bilirubiny.
- Fingerpriny esterů mastných kyselin buněčné stěny (PLFA).

Klasické stanovení „kolifágů“



Koliformní bakterie:

- Nesporulující G- tyčky, OXI (CTO) -,
- růst za přítomnosti žluč. solí (povrchově aktivních látek) aerobně n. fak. anaerobně,
- fermentace laktózy a manitolu s tvorbou kyselin a aldehydu do 48 hod. při 35 - 37°.

Termotolerantní koliformní bakterie:

- dtto při 44°

Presumptivní *Escherichia coli*:

- dtto a IND + (indol)

Escherichia coli:

vše jako předchozí, k tomu:

- MRT + (methyl red)
- VPT – (Voges-Proskauer)
- CSI – (citrát Simmons)
- KCN – (kyanid)
- Dekaboylace kys. glutamové:
fluorescenční metody - testování kolonií na miskách až přímé metody.

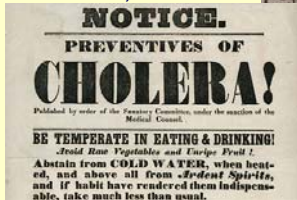
Komerční soupravy (standardizované) pro testování isolátů + hodnocení reakcí + matice možných výsledků. Vysoká automatizace.

Přímé stanovení *E. coli* (MUG)



FIGURE 20.4 Detection of indicator bacteria with Colilert. (a) Addition of salts and enzyme substrates to water sample; (b) yellow color indicating the presence of coliform bacteria; (c) fluorescence under long-wave ultraviolet light indicating the presence of *E. coli*. Photographs courtesy of IDEXX, Westbrook, ME.

Jak s prevencí:
Do úvah o „zdroji“ zahrnout také „zvyky“ a skladování lahví, nádobí, aerosoly, led, atd.



Hledáme zdroje bakterií - patogenních, problematických, „důležitých“:

Microbial Source Tracking:

- Souhrnné postupy k určení původu mikrobů v systému.
- Nejčastěji zjištění „zdroje kontaminace“.
- Nezbytnou součástí je znalost chodu a funkce „systému“, a odpovídající vzorkování.
- Pak „analýzy“, pak „syntéza“/vyhodnocení.

Zdroje mohou být rozličné



MST – metodiky:

Kultury + knihovny typů:

- Resistance na antibiotika (E. coli a další). (Nepřilíš specifické.)
- Standardní **fenotypické** determinační postupy (kultivace, izolace, determinace s „TESTy“), FAME (estery mastných kyselin).
- **Genotypové** metodiky – DNA fingerprinting apod. (PCR, FISH apod.) – pro „kmeny“ a pro „enzymy“.

MST – metodiky:

Kultury/kultivace – nezávislé na knihovnách:

- Bakteriofágy – zejména na Bacteroides fragilis + další „druhy“.
- Poměry výskytu/poměru – např. E.coli vs. enterokoky.
- Bifidobacterium adolescentis + sorbitol fermentující = **HUMÁNNÍ**.
- Rhodococcus coprofilus = **TRÁVOŽROUTI**.

MST – metodiky:

Přímé charakteristiky společenstev:

- **PCR** – hledání a porovnávání sekvencí.

Přímé charakteristiky – nezávislé na knihovnách:

- **Chemické analýzy:** Kofein, fekální steroly a stanoly (a-koprostanol), bilirubin, bělidla z praní, tenzidy vč. alkylbenzenů, voňavky a syntetické mošusy, pesticidy, DROGY, PAU atd. atd. **PPCP**. Pomáhají rozlišovat znečištění průmyslové, komunální, zemědělské atd.
- **Molekulární analýzy** - Host Specific PCR: Viry, skupiny bakterií atd. Nahrazuje/urychluje standardní kultivační metody.

A ještě jednou a jinak - RIBOTYPY

Proteobakterie : (G-)

α - Caulobacterales, Rhizobiales,
Rhodospirillales, Rickettsiales...

β - Hydrogenophilus, někt. Thiobacillus,
Neisseriales, Nitrosomonadales...

γ - Aeromonadales, Chromatiales,
Echerichiales, Legionellales, Methylococcales,
Pasteurellales, Pseudomonadales,
Vibrionales...

δ - Bdellovibrionales, Desulfivibrionales...

ϵ - Campylobacterales (Helicobacter pylori)..

Enterobacteriaceae

- Budvicia,
- Citrobacter, Enterobacter, Erwinia,
- Escherichia,
- Hafnia, Klebsiella, Morganella,
- Pragia,
- Proteus, Providencia, Salmonella,
- Serratia,
- Shigella,
- Yersinia

